

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1906-1907

N° 80

MODIFICATION AUX MÉTHODES DE DÉTERMINATION

DU

RAPPORT AZOTURIQUE

ET DU

RAPPORT CARBONE : AZOTE URINAIRES

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le 15 Février 1907

PAR

Jean-Baptiste GAILHAT

Né à Tournay (Hautes-Pyrénées), le 8 décembre 1873

Examineurs de la Thèse	{	MM. DENIGÈS,	professeur ..	<i>Président.</i>
		PICOT,	professeur...	
		BENECH,	agrégé.....	{ <i>Juges.</i>
		MONGOUR,	agrégé.....	

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'Enseignement médical.

BORDEAUX
IMPRIMERIE Y. CADORET ..

17, Rue POQUELIN-MOLIÈRE, 17

1907

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1906-1907

N° 80

MODIFICATION AUX MÉTHODES DE DÉTERMINATION

DU

RAPPORT AZOTURIQUE

ET DU

RAPPORT CARBONE : AZOTE URINAIRES

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le 15 Février 1907

PAR

Jean-Baptiste GAILHAT

Né à Tournay (Hautes-Pyrénées), le 8 décembre 1873

Examineurs de la Thèse

MM. DENIGÈS,	professeur...	<i>Président.</i>
PICOT,	professeur...	
BENECH,	agrégé.....	<i>Juges.</i>
MONGOUR,	agrégé.....	

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'Enseignement médical.

BORDEAUX
IMPRIMERIE Y. CADORET
17, Rue POQUELIN-MOLIÈRE, 17

1907

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. PITRES..... Doyen. | M. DE NABIAS. Doyen honoraire.

PROFESSEURS

MM. MICÉ.....		} Professeurs honoraires.		
DUPUY.....				
FIGUIER.....				
MASSE.....				
MM.			MM.	
Clinique interne.....	{ PICOT.	Physique biologique et électricité médicale...	BERGONIÉ.	
	PITRES.		BLAREZ.	
Clinique externe.....	DEMONS.	Chimie.....	GUILLAUD.	
	LANELONGUE.	Histoire naturelle.....	DUPOUY	
Pathologie et thérapeu- tique générales....	{ VERGELY (en congé)	Pharmacie.....	DE NABIAS.	
	MONGOUR (chargé)	Matière médicale.....	FERRE.	
Thérapeutique.....	ARNOZAN.	Médecine expérimentale.	BADAL.	
Médecine opératoire..	N.	Clinique ophtalmologique		
Clinique d'accouchements....	LEFOUR.	Clinique des maladies chirurgicales		
Anatomie pathologique.....	COYNE.	des enfants.....	DENUCÉ.	
Anatomie.....	CANNIEU.	Clinique gynécologique.	BOURSIER.	
Anatomie générale et histologie	VIAULT.	Clinique médicale des		
Physiologie.....	JOLYET.	maladies des enfants.	MOUSSOUS.	
Hygiène.....	LAYET.	Chimie biologique.....	DENIGES.	
Médecine légale.....	N.	Physique pharmaceutique.....	SIGALAS.	
		Pathologie exotique....	LE DANTEC	

PROFESSEURS-ADJOINTS :

Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	MM. DUBREUILH.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	POUSSON.
Clinique des maladies du larynx, des oreilles et du nez.....	MOURE.
Clinique des maladies mentales.....	REGIS.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

SECTION DE MÉDECINE (Pathologie interne et Médecine légale).

MM. HOBBS.	MM. VERGER.
MONGOUR.	ABADIE.
CABANNES.	

SECTION DE CHIRURGIE ET ACCOUCHEMENTS

Pathologie externe {	MM. CHAVANNAZ.	Accouchements {	MM. FIEUX.
	BEGOUIN.		ANDERODIAS.
	VENOT.		

SECTION DES SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

Anatomie.....	{ MM. GENTIÈS.	Physiologie.....	MM. GAUTRELET.
	CAVALIE.	Histoire naturelle.	BEILLE.

SECTION DES SCIENCES PHYSIQUES

Chimie.....	M. BENECH.	Pharmacie.....	BARTHE.
-------------	------------	----------------	---------

COURS COMPLÉMENTAIRES :

Pathologie interne.....	RONDOT.
Accouchements.....	ANDERODIAS.
Physiologie.....	GAUTRELET.
Ophtalmologie.....	LAGRANGE.
Hydrologie et minéralogie.....	BEILLE.

Le Secrétaire de la Faculté : LEMAIRE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qu'il lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

MODIFICATION AUX MÉTHODES DE DÉTERMINATION

DU

RAPPORT AZOTURIQUE

ET DU

RAPPORT CARBONE : AZOTE URINAIRES

INTRODUCTION

On sait toute l'importance qu'aurait pour le médecin la connaissance détaillée des éléments organiques, normaux ou anormaux, contenus dans l'urine de beaucoup de ses malades.

Malheureusement, la nature et la complexité des produits excrétés par cet émonctoire sont telles qu'il est à peu près impossible de demander à l'analyse clinique des renseignements précis à ce sujet.

Tout se borne, le plus souvent, à l'énumération systématique de résultats plus ou moins approchés, fournis par des essais

rapides et d'exécution facile plutôt qu'à la détermination de données exactes.

Mais s'il est vrai que l'on ne possède pas encore des méthodes d'analyse précises pour le dosage de tous ces composés, de nombreuses recherches ont démontré, tout au moins, l'intérêt qui s'attache à la détermination rigoureuse du carbone et de l'azote urinaires.

On sait en outre que, de tous les composés azotés de l'urine, l'urée est de beaucoup le plus abondant, le moins toxique et le moins carboné : celui qui représente le produit d'excrétion et de désassimilation le plus parfait pour l'économie.

Il est donc établi que le dosage précis de cette urée, comme celui de la totalité du carbone et de l'azote urinaires s'impose absolument.

La valeur du rapport de l'azote de l'urée à l'azote urinaire total, connu sous le nom de rapport azoturique, de même que celle du rapport du carbone total à l'azote total, sont devenues deux facteurs extrêmement importants que l'on devrait toujours déterminer dans une analyse d'urine complète.

Nous avons donc pensé ne pas faire œuvre inutile en apportant aux méthodes connues, pour le dosage de ces corps, des modifications qui en rendent l'application simple et rapide, tout en leur conservant une parfaite rigueur, conditions absolument indispensables, croyons-nous, à la généralisation de leur mode d'emploi.

C'est là le but que nous nous sommes proposé.

M. le professeur Denigès nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse : il se trouve même qu'une partie de notre travail est la répétition, fortuite il est vrai, d'expériences déjà faites par lui-même, antérieurement, mais encore inédites.

Cela ne le surprendra pas, nous l'espérons, outre mesure ; mais si, en la circonstance, l'élève a quelque mérite, nous sommes heureux de le reporter tout entier à la valeur des leçons professées par le Maître auquel nous adressons ici l'hommage de notre profonde reconnaissance et de notre entier dévouement.

M. le professeur Régis nous a prodigué, en maintes circonstances, les marques de la plus vive sympathie. Nous lui sommes sincèrement reconnaissant de tant de bonté et nous garderons le souvenir ineffaçable de ses leçons si claires et si élevées.

Nous ne saurions assez apprécier la bienveillante sollicitude que nous a toujours témoignée M. le professeur agrégé Barthe : nous lui devons d'avoir pu mener à bien la suite de nos recherches. Nous le prions d'agréer l'expression de nos remerciements respectueux et reconnaissants.

A tous les Maîtres enfin qui nous ont aidé de leurs conseils et soutenu par leurs encouragements, nous dédions ce modeste recueil.

Nous diviserons notre travail en quatre parties.

Dans la première, nous exposerons le dosage du carbone urinaire tel que nous l'avons modifié.

La deuxième partie traitera de la détermination simplifiée de l'azote urinaire total et du rapport carbone : azote.

L'étude d'une méthode de dosage de l'ammoniaque en présence de l'urée, en proportions quelconques, fera l'objet de la troisième partie.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous donnerons une application de cette dernière méthode à la détermination du rapport azoturique.

I

Du dosage de carbone urinaire total

Desgrez (1) a exposé, il y a cinq ans, un procédé de dosage du carbone urinaire qui donne des résultats très satisfaisants et parfaitement acceptables même pour des recherches physiologiques : c'est assez dire qu'en clinique on ne saurait demander plus de précision.

Sa méthode, application du procédé d'Ullgren de dosage du carbone des fontes, consiste à transformer le carbone des urines en acide carbonique, au moyen d'un mélange d'acides sulfurique et chromique, et à peser cet acide carbonique après l'avoir fait absorber, avec les précautions requises, par une série de tubes à potasse caustique, comme cela se pratique dans la méthode de Dumas pour les combustions organiques.

Il nous a paru beaucoup plus rapide et plus simple de doser volumétriquement cet acide carbonique en le faisant absorber par un excès d'eau de baryte titrée et déterminant ensuite cet excès, acidimétriquement, suivant le procédé connu.

De plus, nous avons vérifié qu'on peut utilement remplacer CrO_3 par du peroxyde de manganèse hydraté, obtenu en traitant une solution saturée de MnO^+K par un excès de SO^+Mn , ce qui assure l'avantage de pouvoir utiliser le résidu, resté dans le ballon, au dosage de l'azote total par un procédé que nous indiquerons plus loin.

(1) Desgrez, *Bull. sc. pharm.*, oct. 1901, p. 345.

Mode opératoire. — Nous employons l'appareil de Desgrez, lui-même (1), qui se compose d'un ballon de 100 cc. environ à large col rodé intérieurement. Ce col est légèrement relevé autour d'un bouchon, également en verre et rodé, de manière à former une gouttière que l'on remplit d'acide sulfurique.

Le bouchon livre passage :

1° A un réfrigérant ascendant à boules destiné à condenser les vapeurs produites pendant la réaction ;

2° A un tube à brome permettant d'introduire l'urine d'abord, puis l'acide sulfurique ;

3° A un tube recourbé à angle droit amenant un courant d'air décarboniqué destiné à entraîner les dernières traces de gaz CO^2 produit.

A l'appareil ainsi constitué, nous adaptons un tube absorbant de Meyer à dix boules, contenant la solution titrée de baryte et suivi d'un flacon de Durand jaugé à 250 cc. Dans ce dernier flacon, réuni au tube de Meyer par un tube de caoutchouc, on fait passer une légère partie de la solution barytique dans laquelle viendront barboter une dernière fois les gaz de la réaction.

Au moment d'une opération, on met dans le ballon : cinq ou six grammes de MnO^2 hydraté et l'on dispose l'appareil au-dessus d'un bec de Bunsen.

On verse dans le tube à brome 5 ou 10 cc., suivant les cas, de l'urine à traiter que l'on fait écouler dans le ballon.

Puis on verse, de la même façon, 20 cc. de SO^4H^2 étendu d'un quart de son volume d'eau.

On a préalablement réparti, entre le tube de Meyer et le flacon de Durand, 100 cc. d'eau de baryte saturée.

On chauffe alors avec précaution le mélange introduit dans le ballon.

Une fois le dégagement de CO^2 terminé, on fait passer tout le liquide barytique dans le matras de Durand en inclinant, sans le détacher, le tube de Meyer. On lave ce dernier à cinq

(1) *Loc. cit.*

ou six reprises différentes au moyen d'eau distillée que l'on réunit, avec le même soin, à la liqueur précédente.

On complète alors au volume de 250 cc.

D'autre part, on verse dans un autre ballon jaugé de 250 cc., 100 cc. de la même solution saturée de baryte que l'on étend à ce premier volume avec de l'eau distillée.

Les deux liqueurs, agitées vivement, sont abandonnées au repos jusqu'à clarification parfaite.

On prélève avec soin 100 cc. de chacune de ces deux liqueurs sans entraîner de précipité et l'on titre acidimétriquement avec $\text{SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{4}$ qui correspond sensiblement à l'eau de baryte saturée. Le produit de la différence de titre ainsi observée par le nombre 2,5 représente évidemment l'acide carbonique dégagé dans l'expérience précédente.

On en déduit facilement le carbone correspondant.

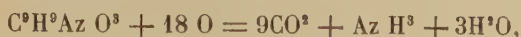
Pour confirmer la précision de cette méthode, nous avons opéré de la sorte sur des solutions connues d'acides urique et hippurique que nous avons pu nous procurer à un état de pureté parfaite.

Nous avons aussi comparé l'action du MnO^2 et du CrO^3 qui nous ont donné tous deux des résultats absolument concordants.

Voici d'ailleurs ces résultats obtenus avec des solutions à 2 p. 1000 d'acides urique et hippurique purs, la solubilité de ces acides étant assurée par un léger excès de potasse pure du sulfate non carbonatée. Ce dernier résultat est atteint en traitant quelques centimètres cubes d'eau de baryte saturée par un léger excès de SO^4K^2 et décantant après repos.

	I	II	III
Titre en $\text{SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{4}$ de 100 cc. d'eau de baryte diluée à $\frac{25}{250}$	9 cc 8	9 cc 8	9 cc 8
Titre du même volume d'eau de baryte après absorption du CO^2 produit :			
I par 10 cc. de solution d'acide hippu- rique à 2 ‰	1 ^o avec CrO^3 ... 2 ^o avec MnO^2 ..	6 cc 5 6 cc 6	6 cc 6 6 cc 5
II par 10 cc. de solution d'acide urique à 2 ‰	1 ^o avec CrO^3 ... 2 ^o avec MnO^2 ..	7 cc 8 7 cc 9	7 cc 9 7 cc 85

De la formule d'oxydation de l'acide hippurique qui est la suivante, dans ces conditions :



on déduit qu'à une molécule-gramme d'acide hippurique doivent correspondre 18 litres de solution normale alcaline soit (18×4) litres de solution de baryte $\frac{\text{N}}{4}$.

Dès lors à 0 gr. 02 d'acide hippurique correspondront :

$$4 \times 18 \text{ cc.} \times \frac{0,02}{0,179} = 8 \text{ cc. } 003 \text{ de baryte } \frac{\text{N}}{4}$$

L'expérience donne $(9,8 - 6,6) \times 2,5 = 8 \text{ cc.}$

Un raisonnement identique montrerait que 0 gr. 10 d'acide urique doivent dégager assez de CO^2 pour saturer.

5 cc. 9524 de liqueur alcaline normale,

Soit :

$$5 \text{ cc. } 9524 \times 4 \text{ de liqueur de baryte } \frac{\text{N}}{4}$$

la formule d'oxydation de cet acide urique pouvant être représentée, dans nos expériences, par l'équation suivante :



d'où 168 grammes d'acide urique dégagent 10 litres de CO^2 normal.

Or nos essais nous donnent pour 0 gr. 02 d'acide urique :

$$2,5 \times (9 \text{ cc. } 8 - 7 \text{ cc. } 9) = 4 \text{ cc. } 75 \frac{\text{N}}{4}$$

Soit pour 0 gr. 10 d'acide urique :

$$4 \text{ cc. } 75 \times 5 = 23 \text{ cc. } 75$$

théoriquement on trouve :

$$5 \text{ cc. } 9524 \times 4 = 23 \text{ cc. } 8096$$

La précision de cette méthode ainsi vérifiée, nous nous sommes assuré, en opérant avec des urines diverses, que l'on obtie-

nait toujours des résultats aussi concordants en utilisant soit le MnO^2 , soit le CrO^3 .

Nous pouvons donc conclure, nous basant sur les expériences de Desgrez, lui-même, qu'il en aurait été de même si nous avions poursuivi nos essais sur des produits aussi variés que ceux qu'il a étudiés.

Mais pour opérer sur des urines ou des solutions chlorurées, il est indispensable d'éliminer les causes d'erreur venant du Cl lui-même.

Il suffit, pour cela, d'ajouter à l'urine une dose de NO^3Ag , déterminée par le dosage préalable des chlorures, juste suffisante pour précipiter ces sels entièrement.

On peut même ajouter simplement au mélange la quantité suffisante d'une solution concentrée de ce sel d'argent sans s'inquiéter du ClAg précipité qui restera inattaqué au fond du ballon et ne gênera nullement, ce dont nous nous sommes assuré.

La méthode, ainsi simplifiée, permet d'exécuter le dosage du carbone total dans une urine en moins d'une heure.

Comme le résidu resté dans le ballon contient tout l'azote urinaire sous forme de sel ammoniacal et permet le dosage de cet élément, en quelques minutes, par une opération gazométrique très rapide, on conçoit combien il devient facile d'établir le rapport $\frac{C}{z}$ d'une urine donnée.

Nous allons donc montrer maintenant comment il convient d'effectuer ce dosage de l'azote urinaire total.

II

Du dosage de l'azote urinaire total.

La vérification expérimentalement établie, du fait que le carbone urinaire était entièrement transformé en acide carbonique, dans les conditions où nous nous sommes placé pour le dosage de cet élément, nous a fait nous demander sous quelle forme se retrouverait l'azote urinaire après l'action du mélange oxydant utilisé.

Il était *à priori* possible de supposer que l'action oxydante de l'un de ces mélanges sulfo-chromique ou sulfo-manganique pourrait transformer, partiellement ou totalement, cet azote en l'une des formes suivantes :

- 1° En azote libre ;
- 2° En azote nitrique ;
- 3° En azote ammoniacal.

Il nous a été très facile de vérifier qu'il ne se formait, dans les conditions de l'expérience, ni de l'azote nitrique, ni de l'azote libre, mais seulement de l'azote ammoniacal.

Cette constatation faite, il devenait nécessaire de s'assurer que cette transformation était complète et pourrait dès lors servir de base au dosage de ce corps.

Nous avons donc étudié l'action du mélange sulfo-manganique sur un certain nombre de composés azotés de l'urine qu'il nous a été possible d'avoir à l'état de pureté, à savoir : l'urée, l'acide urique, l'acide hippurique ; nous avons opéré aussi sur des solutions d'albumine de l'œuf, puis enfin sur des urines

diverses comparativement avec la méthode courante de Kjeldahl-Denigès (1).

Action du mélange sulfo-manganique sur les solutions d'urée pure.

Nous avons employé, pour cette étude, une solution contenant exactement 30 grammes d'urée pure dans quantité suffisante d'eau distillée pour faire un litre.

C'est là une dose rarement dépassée, on le sait, par les urines normales.

On prenait pour un essai :

10 cc. de solution d'urée.

5 grammes environ de peroxyde de manganèse hydraté. et l'on ajoutait des doses croissantes de SO_4H^2 , puis on portait à l'ébullition en évitant toute concentration au moyen d'un réfrigérant à reflux et en déterminant avec soin la durée de chaque opération.

Ces essais nous ont démontré les faits suivants :

1° L'urée n'exerce aucune action réductrice sur le peroxyde de manganèse dans les conditions de nos expériences.

2° Le mélange sulfo-manganique agit sur ces solutions d'urée absolument comme de l'acide sulfurique seul, en milieu d'égale concentration et cette action se traduit par une hydratation pure et simple, l'urée étant seulement transformée en CO^2Am^2 dont l'acide carbonique est déplacé au fur et à mesure de l'hydratation.

3° Pour arriver à une transformation complète de cette urée en sel ammoniacal, il faut traiter ses solutions en milieu sulfurique concentré au moins à 65 p. 100 de cet acide et opérer à la température de l'ébullition maintenue pendant une durée d'au moins quarante minutes.

Nous avons consigné dans le tableau suivant les résultats du dosage de l'ammoniaque formée, dans ces conditions, avec des

(1) Denigès, *Chim. analyt.*, 1903, p. 638.

doses croissantes de SO_4H^2 et après une durée d'ébullition variable, lors d'une série d'essais sans MnO_2 ; ces résultats étant absolument du même ordre quand on ajoutait de ce composé au mélange, nous avons pu établir que son influence sur l'hydratation de l'urée reste inappréciable.

Mais comme il était indispensable de pouvoir doser l'ammoniaque formée en présence de l'excès d'urée non décomposée, nous nous sommes servi d'un procédé cyano-hydrargyrimétrique que nous exposerons plus loin.

	DOSES D'ACIDE SULFURIQUE AJOUTÉES			
	10 %	20 %	50 %	65 %
Quantité d'azote de l'urée mise en œuvre.	0 g. 140	0 g. 140	0 g. 140	0 g. 140
Quantité d'azote transformé en AzH^3 :				
1 ^o après 10 minutes d'ébullition. . . .	0 g. 0052			
2 ^o » 20 » »	0 g. 007	0 g. 010	0 g. 071	0 g. 114
3 ^o » 40 » »	0 g. 011	0 g. 014	0 g. 096	0 g. 137
4 ^o » 60 » »	0 g. 016	0 g. 023		

Ce qui nous montre que la transformation n'est complète qu'après 40 minutes d'ébullition en milieu sulfurique à 65 p. 100.

Action du mélange sulfo-manganique sur les solutions d'acide urique pur.

On connaît l'action réductrice de l'acide urique sur les solutions de caméléon acide et froid.

Nous avons constaté que, même à l'ébullition prolongée pendant 30 minutes, l'oxydation de ce corps par le peroxyde de manganèse n'est complète qu'en milieu fortement sulfurique et que son azote passe alors tout entier sous la forme ammoniacale.

La solution traitée contenait 2 grammes par litre d'acide urique.

Nous en prenions 10 cc. correspondant à 0 gr. 00667 d'azote ; nous ajoutons 5 grammes de MnO^2 et des doses croissantes d'acide sulfurique variant de 10 p. 100 à 65 p. 100, puis nous portions à l'ébullition pendant une durée constante de 30 minutes.

Le résidu contenait, sous forme de sel ammoniacal, les quantités d'azote ci-après :

Doses de SO^4H^2 ajoutées au mélange.	10 %	20 %	50 %	65 %
Quantité d'azote urique mise en œuvre	0 g. 00667	0 g. 00667	0 g. 00667	0 g. 00667
Quantité d'azote ammoniacal trouvée après 30 minutes d'ébullition	0 g. 0011	0 g. 0026	0 g. 0048	0 g. 0068

Ce tableau nous montre que la transformation de l'azote urique en ammoniacque est totale après 30 minutes d'ébullition avec 65 p. 100 d'acide sulfurique.

Action du mélange sulfo-manganique sur les solutions d'acide hippurique.

L'acide hippurique est, lui aussi, fort résistant à l'action oxydante du MnO^2 en milieu sulfurique.

Mais son azote passe tout entier et très facilement sous la forme ammoniacale même en présence de 10 p. 100 de SO^4H^2 et après 20 minutes d'ébullition seulement.

En effet :

20 cc. de solution de cet acide à 2 p. 100

traités par la méthode de Kjeldahl et étendus à 100 cc., après toutes les manipulations requises, ont donné une liqueur dont :

20 cc. traités par un excès de BrONa dans l'appareil de Mercier dégageaient :

1° 5 cc. 2 de gaz azote.

2° 5 cc. 1 « «

20 cc. de la même solution hippurique traités par 5 ou 6 grammes de MnO_2 , puis 20 cc. de H_2O distillée et 5 cc. de SO_4H^2 ont fourni, après 20 minutes d'ébullition, un mélange qui, refroidi, a été porté au volume de 50 cc. agité et abandonné au repos.

On a prélevé ensuite 25 cc. du liquide clair surnageant le précipité.

Cette prise de la liqueur a été alors neutralisée exactement avec une lessive de soude ajoutée goutte à goutte jusqu'à obtention d'un louche persistant, le sel de manganèse, resté en dissolution est précipité par addition d'un léger excès de CO_3Na^2 ; on porte au volume de 50 cc. et l'on filtre.

20 cc. de ce filtrat, traités à leur tour par un excès de BrONa , dans l'appareil de Mercier, ont dégagé :

1°	5 cc. 1 de gaz azote.
2°	5 cc. 2 —
3°	5 cc. 2 —

Au même moment, 0 gr. 005 d'azote ammoniacal, traités dans les mêmes conditions par un excès de BrONa dégageaient :

1°	4 cc. 15 de gaz azote.
2°	4 cc. 20 —

D'après cela, 5 cc. 2 correspondent à :

$$\frac{0 \text{ gr. } 005}{4,2} \times 5,2 = 0 \text{ gr. } 00619 \text{ de gaz azote.}$$

Or, la théorie montre que les 0 gr. 08 d'acide hippurique contenus dans le liquide traité renferment :

$$\frac{14}{179} \times 0,08 = 0 \text{ gr. } 00626 \text{ d'azote.}$$

Le dosage par la méthode cyano-hydrargyrimétrique de l'azote ammoniacal formé dans les mêmes conditions a donné :

0 gr. 0078 pour 5 cc. de solution hippurique qui en contiennent théoriquement :

$$\frac{14}{179} \times 0,1 = 0 \text{ gr. } 007821.$$

Action du mélange sulfo-manganique sur les solutions d'albumine de l'œuf.

Nous avons fait avec un blanc d'œuf, battu dans de l'eau distillée, une solution qui, filtrée, a été étendue à 250 cc.

20 cc. de cette solution traités par la méthode de Kjeldahl ont fourni, après avoir été neutralisés et portés à 100 cc., une liqueur dont :

20 cc. ont dégagé : 3 cc. 2 de gaz azote.

20 cc. de la même solution albumineuse traités, comme nous l'avons montré pour l'acide hippurique, par un excès de MnO^2 et 10 0/0 de SO^2H^2 ont fourni 100 cc. d'une liqueur neutralisée et débarrassée du manganèse, dont 20 cc. dégageaient aussi par un excès de BrONa :

1°. 3 cc. 1 de gaz.

2°. 3 cc. 2 —

lorsque 0 gr. 005 d'azote ammoniacal occupaient dans les mêmes conditions :

Un volume de : 4 cc. 1.

Le dosage cyanimétrique de l'azote ammoniacal fourni par une deuxième opération, avec le même mélange sulfo-manganique, a donné pour 5 cc. de solution d'albumine :

Azote ammoniacal = 0 gr. 0051.

Dès lors la richesse en azote de la solution d'albumine traitée était gazométriquement :

$$0 \text{ gr. } 005 \times \frac{3,2}{4,1} \times \frac{1000}{4} = 0 \text{ gr. } 975 \text{ 0/00.}$$

Cyanimétriquement on avait :

$$0 \text{ gr. } 0051 \times \frac{1000}{5} = 1 \text{ gr. } 02 \text{ 0/00.}$$

On voit donc bien que tout l'azote albuminoïde de l'œuf, comme celui de l'acide hippurique, est transformé en ammoniac dans les conditions précitées.

Application de cette méthode au dosage de l'azote urinaire total.

Il nous aurait été fort difficile de poursuivre, sur des produits purs, l'étude comparée de ces méthodes d'analyse; mais nous avons alors vérifié que l'action du mélange sulfo-manganique constituait un procédé directement applicable au dosage de l'azote total d'urines diverses, les résultats fournis concordant toujours d'une manière parfaite avec ceux que donne le procédé de Kjeldahl.

Pour la mise en œuvre de cette méthode sulfo-manganique, il est d'ailleurs inutile d'ajouter au mélange la dose de SO^4H^2 qui serait nécessaire à la transformation intégrale de cet azote urinaire en AzH^3 .

Les composés qui résistent en milieu concentré à 10 0/0 de cet acide étant, comme l'urée et l'acide urique, susceptibles d'être eux-mêmes décomposés par BrONa , on conçoit, en effet, que cette concentration est bien suffisante et l'expérience confirme de tous points cette manière de voir.

Dès lors, à moins d'opérer sur le résidu du dosage du carbone urinaire total, précédemment exposé, voici comment il convient d'agir :

On verse, dans un verre de Bohême, 10 cc. d'urine à laquelle on ajoute la quantité, déterminée d'avance, d'une solution concentrée de NO^3Ag suffisante pour la précipitation complète des chlorures de cette urine.

On ajoute 5 ou 6 gr. de peroxyde de manganèse hydraté, puis 5 cc. de SO^4H^2 pur et l'on porte le tout au volume de 40 cc. environ avec de l'eau distillée.

On porte à l'ébullition pendant 20 minutes, après avoir adapté le flacon à un réfrigérant à reflux.

On réduit alors l'excès de peroxyde de manganèse avec une solution concentrée d'acide oxalique ajoutée goutte à goutte et

l'on verse la liqueur obtenue de la sorte dans un ballon jaugé de 100 cc. On lave le verre de Bohême à plusieurs reprises, en réunissant les eaux de lavage à la liqueur précédente, et l'on complète au volume indiqué après refroidissement. On agite et l'on filtre ou bien on laisse déposer très rapidement le ClAg et l'on prélève 50 cc. de la liqueur claire, le surnageant, que l'on verse dans un deuxième matras jaugé de 100 cc.

On neutralise exactement avec une lessive de soude, puis on verse un léger excès de CO_3Na^2 . On complète encore à 100 cc. après refroidissement, on agite et l'on filtre.

20 cc. du filtrat correspondant à 1 cc. d'urine sont alors traités par un excès de BrONa dans l'azotomètre où l'on mesure le volume gazeux dégagé.

On opère comparativement avec une dose de solution type d'urée pure, susceptible de dégager une quantité d'azote sensiblement égale à celle de l'expérience précédente et étendue aussi au volume de 20 cc.

N.-B. — Mais il est bon, pour assurer le dégagement le plus complet possible de l'azote, lors de ces opérations, d'ajouter à la solution traitée 2 cc. d'une solution de glucose pur à 25 p. 100, suivant les indications de Garnier et Michel (1).

Cette précaution garde ici toute son utilité puisque nous savons que l'azote de l'urée et de l'acide urique est partiellement resté sous une forme autre qu'un sel ammoniacal ce qui modifie les résultats fournis par l'action du BrONa.

Si l'on a effectué le dosage du carbone total, on peut utiliser le résidu resté dans le ballon de l'appareil de Desgrez qui contient, lui, tout l'azote urinaire à l'état de sel ammoniacal. L'opération est conduite, par la suite, comme celle que nous venons d'exposer : mais on prend pour type une solution de SO_4Am^2 à 4 gr.715 de ce sel par litre.

Le rapport des deux nombres ainsi trouvés pour le dosage du carbone et de l'azote urinaires peut donc être déterminé pratiquement en moins d'une heure : nous ne pensons pas que ce résultat ait jamais été atteint.

(1) *J. Ph. et Ch.*, 1900, p. 53.

III

Du dosage des sels ammoniacaux en présence de l'urée.

Il nous faut maintenant, avant de pouvoir utilement aborder l'étude d'un procédé de détermination du rapport azoturique auquel nous nous sommes arrêté, faire connaître le moyen très rapide de dosage des sels ammoniacaux en présence d'urée, même en très forte proportion, que nous avons mis au point à cet effet.

C'est à ce procédé même que nous avons déjà fait allusion au cours de notre travail. Il consiste dans une application de la méthode cyano-hydrargyrimétrique due au professeur Denigès (1).

On sait que le réactif de Nessler, solution très fortement alcaline d'iodure mercurico-sodique et réactif si sensible à l'action des sels ammoniacaux, n'est aucunement influencé par les solutions d'urée pure.

Nous avons eu l'idée d'utiliser cette propriété au dosage d'un mélange de ces produits azotés, dosage toujours long et fort délicat par les méthodes actuellement employées (2).

Notre méthode consiste essentiellement à précipiter les sels ammoniacaux par un excès connu et titré de réactif de Nessler et à déterminer cyanimétriquement la dose de mercure disparu, dose d'où l'on peut déduire, comme nous allons le montrer, la quantité d' AzH^3 mise en œuvre.

(1) Denigès, *Chim. analyt.*, 1903, p. 674.

(2) Frenkel, *Bull. Soc. chim.*, XXXV, p. 250.

Mais il faut bien remarquer que le précipité ainsi obtenu est loin de répondre à la formule de constitution qu'on lui a souvent attribuée (1), et l'on s'exposerait à de graves erreurs si l'on cherchait à tirer de cette formule même des conclusions relatives au dosage de l'azote ammoniacal entrant dans sa composition.

Il faut savoir, en effet, que cette composition varie beaucoup avec les conditions dans lesquelles on opère et qu'elle est fonction, dans un milieu donné, des quatre facteurs entrant dans la constitution du précipité, à savoir :

- 1° La dose de sel ammoniacal mise en œuvre.
 - 2° La dose d'iode
 - 3° La dose de mercure
- } apportés par le réactif.
- 4° Enfin et surtout la quantité de soude caustique ajoutée.

Nous avons, pour vérifier ces faits, effectué une série de recherches que nous allons exposer :

Préparation d'un réactif inaltérable. — Le réactif employé était constitué par une solution d'iodure mercurico-potassique obtenu en dissolvant.

HgCl ² pur	27 gr. 40.
KI pur.	72 gr.
Dans eau distillée, q. s. pour. . .	1.000 cc.

A cette solution, absolument inaltérable en elle-même, il suffit d'ajouter une quantité déterminée de soude caustique, au moment de l'emploi, pour avoir la certitude de toujours opérer dans des conditions identiques.

Outre cette solution que nous appellerons :

1° Liq. I. M.

Nous employions :

(1) Buisson, *J. Ph. et Ch.*, 6^e série, XXIV, p. 289.

2° Liq. S. : une solution de soude caustique pure à 40 p. 100.

3° Liq. Am : une solution titrée de $\text{SO}^4 \text{Am}^3$ contenant 4 gr. 715 de ce sel absolument pur ce qui donne à la liqueur une richesse en azote égale à 1 gr. pour 1.000 cc.

4° Liq. Cy K $\frac{N}{10}$: une solution déci-normale de cyanure de potassium correspondant sensiblement à la liqueur suivante :

5° Liq. $\text{NO}^3 \text{Ag}$ $\frac{N}{10}$: une solution déci-normale de nitrate d'argent contenant 17 gr. de ce sel bien pur, par litre, et prise pour étalon.

Détermination du titre de la liqueur I. M. — Pour titrer cette solution qui doit correspondre sensiblement à la liqueur Cy K $\frac{N}{10}$ vis-à-vis de la solution type de $\text{NO}^3 \text{Ag}$ $\frac{N}{10}$:

On verse dans un matras jaugé de 250 cc. :

50 cc. de liq. I. M.

puis 15 cc. de liq. S.

et l'on complète au volume de 250 cc. avec de l'eau distillée.

Si la solution de soude caustique était bien pure, on devrait avoir ainsi une liqueur parfaitement limpide. Cela est extrêmement rare.

On ajoute alors une pincée de MgO calcinée au mélange et l'on agite vigoureusement puis on filtre.

On obtient rapidement un filtrat très limpide.

On verse 100 cc. de ce filtrat dans un verre de Bohême.

On y ajoute :

25 cc. de Cy K $\frac{N}{10}$,

10 cc. d'ammoniaque du commerce.

et l'on titre avec le $\text{NO}^3 \text{Ag}$ $\frac{N}{10}$ que l'on verse goutte à goutte jusqu'à louche persistant.

Du volume de cette liqueur d'argent employé, on déduit facilement le titre cherché.

Action de la solution titrée de SO^4Am^2 sur le réactif de Nessler.

Si l'on prend :

50 cc. de liq. I. M.

15 cc. de liq. S.

dont le mélange constitue une prise de réactif de Nessler identique à celle de l'essai précédent, et que, renouvelant plusieurs fois l'opération, l'on y ajoute chaque fois une dose déterminée mais croissante de la solution Am, de façon à agir sur des quantités connues d'Az variant, de milligramme en milligramme, depuis 1 jusqu'à 10 milligrammes de cet élément, on peut, en portant le tout au volume de 250 cc. et filtrant chaque fois comme plus haut, s'assurer des faits suivants :

1° Le filtrat contient bien un excès de réactif de Nessler car il donne un nouveau précipité par addition de AzH^3 et il ne précipite plus au contraire après une nouvelle addition de NaOH et de réactif iodo-mercureux.

2° En titrant, comme plus haut, 100 cc. de ce filtrat, on constate qu'il faut lui verser, pour obtenir un louche persistant, des quantités de $\text{NO}^3\text{Ag} \frac{\text{N}}{10}$ différentes de celle qui a été nécessaire au premier essai, ce qui était prévu.

3° Les différences entre ces quantités de $\text{NO}^3\text{Ag} \frac{\text{N}}{10}$ et celle du titrage primitif correspondent évidemment aux doses de mercure précipitées par le sel ammoniacal ajouté dans chaque cas. Elles restent, dans ces limites, *absolument proportionnelles* aux doses utilisées de la solution Am et peuvent, dès lors, servir de base à un dosage rigoureux de l'azote ammoniacal qu'elles contiennent.

Nous avons consigné dans le tableau ci-après les résultats de plusieurs séries d'essais ainsi effectués.

Quantités d'azote ammoniacal mis en œuvre.	Quantités de $\text{NO}^3\text{Ag} \frac{\text{N}}{10}$ nécessaires pour obtenir un louche persistant dans 100 cc. du filtrat après addition de 25 cc. de $\text{CyK} \frac{\text{N}}{10}$				
	I	II	III	IV	V
0 g 000	6, cc 9	6 cc 2	2 cc	7 cc	6 cc 1
0. 001	7. 4	6. 8	2. 6	7. 6	6. 8
0. 002	7. 9	7. 3	3. 1	8. 2	7. 5
0. 003	8. 5	7. 9	3. 6	8. 9	8. 1
0. 004	9. 4	8. 4	4.	9. 4	8. 8
0. 005	10. 0	9.	4. 6	10. 1	9. 3
0. 006	10. 5	9. 6	5.	10. 7	9. 9
0. 007	11. 2	10. 2	5. 4	11. 2	10. 5
0. 008	11. 8	10. 8	5. 9	11. 8	11.
0. 009	12. 3	11. 3	6. 4	12. 4	11. 7
0. 010	12. 8	12.	6. 9	13.	12. 2

Comme on le voit, ces résultats peuvent varier légèrement d'une série à l'autre : cela tient à l'emploi de réactifs auxquels on n'a pas assuré une constance de concentration absolue ; mais, dans chacune de ces séries, nous avons eu soin d'opérer toujours avec les mêmes liqueurs pour assurer la plus grande précision possible à nos essais.

Si maintenant, poursuivant l'une de ces séries d'opérations, on ajoute à des prises toujours égales de réactif de Nessler des doses d'azote ammoniacal supérieures à 10 milligrammes, on trouve que le filtrat obtenu est susceptible de fournir un nouveau précipité par une addition supplémentaire soit d'ammoniaque, *soit de soude caustique* bien pure.

Ceci prouve bien que, dans ces conditions nouvelles, la précipitation ne saurait avoir été complète pour l'un quelconque des produits mis en présence.

Il en est ainsi tant que la dose de mercure précipité ne dépasse pas la moitié environ de celle que contient la prise d'essai.

Dès que l'on vient à dépasser cette proportion par une addition encore plus élevée de SO^4Am^2 , le filtrat ne précipite plus.

par un sel ammoniacal mais il précipite au contraire fortement si on lui ajoute une nouvelle dose de soude caustique très pure, même sans autre addition de liquide ioduro-mercureux.

On voit par là, indépendamment des recherches d'autres auteurs ayant étudié ces combinaisons (1), combien on serait peu fondé à assigner à la réaction qui se passe ici une formule invariable.

Le fait intéressant à retenir et le seul utile au but que nous nous sommes proposé, consiste donc à savoir que le réactif de Nessler, préparé et titré cyanométriquement suivant nos indications, peut parfaitement servir au dosage de l'azote ammoniacal, à la condition de mettre en œuvre une quantité de ce réactif contenant au moins quatre fois plus de mercure que n'en entraînera le précipité formé après l'addition de la solution de sel ammoniacal à titrer.

A cet effet, il faut d'abord, après avoir préparé les liqueurs, établir une courbe ou bien une formule, applicable dans des conditions bien déterminées, et qu'il est indispensable de corriger chaque fois que l'on renouvelle l'une quelconque des liqueurs. La solution de soude caustique surtout est particulièrement à surveiller, sa concentration et la quantité employée à chaque opération exerçant sur les résultats une influence capitale.

Ceci posé, voici le mode opératoire auquel nous nous sommes arrêté :

On effectue un premier titrage des liqueurs en suivant les prescriptions établies.

Soit n cc. le nombre de centimètres cubes de solution NO^3Ag $\frac{N}{10}$ employés.

On renouvelle l'opération après avoir introduit dans le mélange des liq. I. M. et liq. S., 10 cc. de solution Am à 1 gr. d'azote par litre, soit 0 gr. 010 de cet élément.

(1) Buisson, *loc. cit.*

On doit alors verser un volume de NO^3Ag $\frac{N}{10}$ supérieur au précédent, soit :

$$(n + a) \text{ cc.}$$

Il résulte de nos recherches que, dans ces limites, si l'on vient maintenant à opérer sur une solution à doser contenant une quantité égale à x milligr. d'azote ammoniacal — x étant compris entre 0 et 10 milligr. —, il faudra pour le titrage final un volume de liq. NO^3Ag $\frac{N}{10}$ égal à :

$$(n + x \frac{a}{10}) \text{ cc.}$$

L'expérience donnera par exemple un chiffre égal à

$$(n + q) \text{ cc.}$$

On aura donc :

$$q = x \frac{a}{10} \text{ et}$$

$$x = \frac{q}{a} \times 10 \text{ milligr.}$$

N.-B. — Pour que l'opération ait lieu dans de bonnes conditions, il faut et il suffit que l'on ait :

$$n + q < n + a$$

S'il n'en était pas ainsi, on recommencerait en employant une dose moindre de la solution à doser.

Nous nous sommes assuré que la présence de substances très diverses, inactives sur le réactif de Nessler, ne trouble aucunement les résultats de cette méthode.

De fortes quantités de différents sels solubles (carbonates, sulfates, chlorures alcalins ou alcalino-terreux, etc.) n'ont aucune influence sur le dosage ainsi fait.

Il en est de même de l'urée en très forte proportion et d'un liquide éthéro-alcoolique ajouté à la dose de 20 p. 100 qui lui laissent une précision remarquable. Ceci nous a permis de faire de cette méthode une application à laquelle nous visions particulièrement.

IV

Dosage rigoureux de l'urée et détermination du rapport azoturique.

Le dosage de l'urée, tel qu'il est ordinairement exécuté, ne peut donner que des résultats approximatifs, tout à fait insuffisants quand il s'agit de déterminer le rapport azoturique.

Les méthodes rigoureuses employées consistent à précipiter, au moyen d'un réactif approprié, tous les composés azotés de l'urine autres que l'urée et à doser cette dernière après l'avoir isolée.

Il n'existe malheureusement pas de réactif capable de donner un tel résultat.

L'acide phospho-tungstique, préconisé par Moreigne, laisse en solution un trop grand nombre de produits azotés (acides mono-aminés : glycocolle, leucine, tyrosine, acide hippurique...) (1) pour ne donner lieu à aucun doute sur son efficacité.

La solution saturée de Cl^2Ba avec 5 p. 100 de $\text{Ba}(\text{OH})^2$, utilisée par Mørner et Jøqvist en milieu éthéro-alcoolique, ne précipite ni les sels ammoniacaux ni l'acide hippurique, qui restent en solution avec l'urée.

Toutefois l'acide hippurique, n'étant pas décomposé à froid par le BrONa , ne gêne pas un dosage gazométrique d'urée et il suffit d'éliminer les sels ammoniacaux de cette dernière solution pour aboutir au résultat cherché.

(1) E. Schulze et E. Winterstein, *Physiolog. Ch.*, 1901, 33, 574-578.

Pour cela on évapore le liquide éthéro-alcoolique à une température ne devant pas s'élever au-dessus de 60°, on alcalinise le résidu avec de MgO calcinée et on entraîne l' AzH^3 préexistante en faisant barboter dans le mélange un courant d'air prolongé (1).

Toutes ces manipulations ne vont pas sans difficulté.

La méthode cyanimétrique précédente, au contraire, est susceptible d'application même en ce cas particulier, car la présence de l'urée, de l'acide hippurique et d'un mélange éthéro-alcoolique, même à 20 p. 100 dans le milieu constitué par le réactif de Nessler, tel que nous l'employons, ne nuit en rien.

Dès lors, le dosage de l'urée, restée en solution éthéro-alcoolique, devient très simple.

La première partie de ce dosage sera donc la même que dans le procédé de Mørner et Jørgvist :

Dans un matras jaugé de 100 cc. on verse :

5 cc. d'urine

5 cc. de solution saturée de Cl^2Ba avec 5 p. 100 de $\text{Ba}(\text{OH})^2$

puis on ajoute, en agitant, assez de liqueur éthéro-alcoolique, contenant deux parties d'alcool à 95° et une partie d'éther à 65°, pour parfaire le volume de 100 cc.

On bouche hermétiquement après vive agitation et l'on abandonne au repos durant 24 heures dans un endroit frais.

Après ce temps, on prélève avec précaution, sans mélanger le liquide clair au précipité réuni au fond du flacon, deux prises consécutives :

l'une de 20 cc.

l'autre de 25 cc. de ce liquide.

La première est additionnée de 5 ou 6 gouttes de SO^4H^2 dans un matras jaugé de 50 cc. que l'on plonge dans un bain d'eau bouillante. Le résidu de cette opération est refroidi, après éva-

(1) Frenkel, *loc. cit.*

poration de la presque totalité de ce liquide éthéro-alcoolique, et étendu au volume de 50 cc. dont la moitié, traitée par un excès de BrONa dans l'azotomètre de Mercier, permettra le dosage de l'azote de l'urée et des sels ammoniacaux réunis, en opérant avec les précautions signalées lors du dosage de l'azote total.

La deuxième prise de 25 cc. de ce liquide éthéro-alcoolique est versée dans un matras jaugé de 250 cc. avec :

50 cc. de liq. ioduro-mercurique.

15 cc. de liq. S. de soude caustique, puis étendue au volume de 250 cc. avec de l'eau distillée.

On termine alors le dosage de l'azote ammoniacal comme nous l'avons établi précédemment (1).

Il est bon, dans ce cas, pour éviter toute cause d'erreur possible, de titrer les solutions employées au dosage dont nous nous occupons, en ayant soin d'ajouter à chacun des deux essais nécessaires 25 cc. de liquide éthéro-alcoolique, comme cela se passe dans l'opération portant sur la liqueur urinaire traitée.

Cette dernière opération donnera donc l'azote ammoniacal préexistant dans l'urine.

Il suffira de retrancher sa valeur de celle que donne le dosage précédent pour avoir la dose d'azote de l'urée.

Le rapport de cette valeur à celle de l'azote total constituera le Rapport azoturique.

(1) Il est bon de ne verser la solution éthéro-alcoolique qu'après avoir déjà étendu à environ 200 cc.

CONCLUSIONS

1° La modification, apportée par nous, à la méthode de Desgrez pour le dosage du carbone urinaire total, permet d'obtenir des résultats exacts en moins d'une heure;

2° La substitution de peroxyde de manganèse hydraté à l'anhydride chromique, dans cette méthode, permet d'utiliser le résidu de cette première opération au dosage gazométrique de l'azote urinaire total, ce qui donne le moyen de déterminer très rapidement le rapport carbone : azote urinaires;

3° Nous avons établi une méthode très rapide et commode de dosage de l'azote ammoniacal par cyano-hydrargyrimétrie susceptible d'une multitude d'applications, parmi lesquelles il convient de placer le dosage d'un mélange d'urée et de sels ammoniacaux que l'on rencontre en plusieurs liquides physiologiques comme l'urine;

4° Cette dernière application constitue, à l'heure actuelle, le procédé le plus simple et le plus facile de détermination du rapport azoturique.

VU BON A IMPRIMER :
Le Président de la thèse,
D^r G. DENIGÈS.

VU : *Le Doyen,*
A. PITRES.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 6 février 1907.
Le Recteur de l'Académie,
R. THAMIN.

